

УДК: 619:614.7:639.3:579.63

ГРИНЕВИЧ Н.Є., канд. вет. наук

gnatbc@ukr.net

Білоцерківський національний аграрний університет

## МІКРООРГАНІЗМИ ПРОЦЕСІВ НІТРОГЕННОГО ЦИКЛУ У ВОДІ РЕАКТОРА БІОФІЛЬТРА В УСТАНОВКАХ ЗАМКНУТОГО ВОДОПОСТАЧАННЯ ЗА ВИКОРИСТАННЯ РІЗНИХ НАПОВНЮВАЧІВ

Необхідність економного використання води у форелевих індустріальних господарствах спонукала до розробки методів ефективного водокористування, в тому числі запровадження систем оборотного водопостачання (СОВ) або установок замкнутого водопостачання із біофільтрацією води (УЗВ). За останнє десятиліття форелеві заводи орієнтуються саме на циркуляційні установки, оскільки тільки за такого способу досягається раціональне використання води і можливість регулювання та контролю умов довкілля.

Представлено результати дослідження чотирьох видів наповнювача біофільтра, що використовуються в індустріальних форелевих господарствах.

У випадку біологічного очищення переважають процеси біологічного окиснення і окисно-відновних реакцій, що проходять за рахунок мікроорганізмів. Саме вони відіграють ключову роль в обробці води, тим самим відображаються на прирості біомаси, активності риби та споживанні кисню системою.

**Ключові слова:** УЗВ, райдужна форель, нітрогенний цикл, бактеріопланктон, наповнювачі біофільтра, біофільтрація, нітрифікуючі бактерії.

**Постановка проблеми.** Особливості використання біофільтрів в установках замкнутого водопостачання в аквакультурі виставлені у наших попередніх повідомленнях і свідчать, що наповнювачі біофільтрів відіграють одну з ключових ролей для підтримання оптимальних умов для роботи УЗВ [3,10]. Водночас досліджень щодо зміни кількості мікроорганізмів, що беруть участь у процесах нітрогенного циклу і концентрація нітритів у воді реактора біофільтра УЗВ за використання різних наповнювачів ми не виявили у доступній нам літературі, а окремі повідомлення не висвітлюють поставленої проблеми і є розрізненими [6].

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Вода установок замкнутого водопостачання (УЗВ) є сприятливим середовищем не тільки для риби, яку вирощують, але й для проживання бактерій. До складу бактеріопланктону входять мікроскопічні одноклітинні організми різних фізіологічних груп: азотфіксатори, амоніфікатори, нітрифікатори, денітрифікатори, залізо- і сіркобактерії, сульфатредукуючі та інші бактерії. У воді вони знаходяться у завислому стані поодинокі або в скупченнях – агрегатах [4, 9]. Значна частина бактерій заселяє біофільтр УЗВ, де бере участь в розкладанні органічної речовини, що утворюється внаслідок життєдіяльності риб, до фосфатів, аміаку, нітритів, нітратів тощо, які у різною мірою впливають на здоров'я риб [2]. За впливом на здоров'я риб фосфати відносять до інертної речовини, що не володіє токсичною дією. Проте, значну небезпеку у воді створює нітроген у формі вільного аміаку ( $\text{NH}_3$ ), який є токсичним для риби і має бути перетворений у біофільтрі в нешкідливий нітрат. При цьому нітрифікуючі бактерії здійснюють перетворення аміаку в нітрит, а потім в нешкідливий для риби нітрат [5, 8].

**Метою роботи** було визначити кількість мікроорганізмів, що беруть участь у процесах нітрогенного циклу і концентрацію нітритів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача за введення його в технологічний процес і тривалості досліді 30 діб.

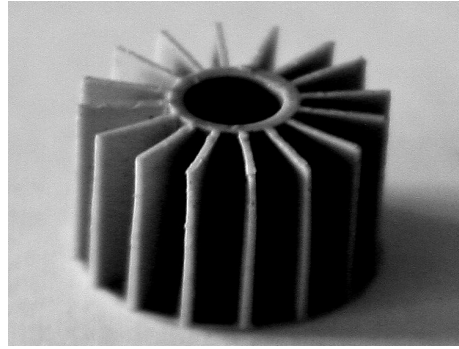
**Матеріал і методика досліджень.** У досліді використали чотири види наповнювачів біофільтра: 1 – статичний керамзит; 2 – RK PLAST – виготовлений із пропілену, корисна (робоча) поверхня  $635 \text{ м}^2/\text{м}^3$ , діаметр 15/15, вага  $175 \text{ кг}/\text{м}^3$ ; 3 – AQ-25 – поліпропілен високої щільності HDPE  $312 \text{ м}^2/\text{м}^3$ , корисна (робоча) поверхня  $226 \text{ м}^2/\text{м}^3$ , діаметр 25/25, вага  $71 \text{ кг}/\text{м}^3$ ; 4 – KALDNER K1П – поліпропілен високої щільності, корисна (робоча) поверхня  $450 \text{ м}^2/\text{м}^3$ , діаметр 16/10.

На рисунку 1 (а, б, в, г) наведено зображення наповнювачів біофільтра, що використовуються в індустріальних форелевих господарствах.

Матеріалом для дослідження служила вода УЗВ, яку відбирали безпосередньо з біофільтра. Нітрифікуючі мікроорганізми виділяли згідно з методикою описаною Spieck E.C., Hartwig I. та ін. [2, 3]. Нітрити у воді визначали за допомогою GBL-тесту.



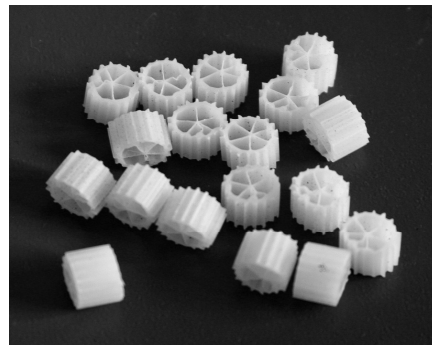
а – керамзит



б – RK PLAST



в – AQ-25



г – KALDNER K1П

Рис. 1. Зображення наповнювачів біофільтра, що використовуються в індустриальних форелевих господарствах

**Основні результати дослідження.** У попередніх повідомленнях ми відмічали, що біофільтри УЗВ можуть бути спроектовані як фільтри з плаваючим або нерухомим наповнювачем. На сьогодні день всі біофільтри, що використовують у рециркуляції, під час експлуатації повністю занурені у воду. Очищення води методом біофільтрації, базується на здатності мікроорганізмів поселятися і розмножуватися на поверхні наповнювача і переробляти шкідливі для риб речовини, з яких найбільш небезпечними є нітрити, у відносно нешкідливі сполуки – нітрати [3]. Результати досліджень кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра за використання таких наповнювачів як статичний керамзит, RK PLAST, AQ-25 і KALDNER K1П показали (табл. 1), що найбільш інтенсивно мікроорганізми заселяють поліпропіленові наповнювачі упродовж 21-25 днів, а керамзитові – 26-30 днів. У вказаний період кількість нітрифікуючих бактерій перебувала приблизно на одному рівні і становила  $10^7$  КУО/см<sup>3</sup> води. У воді реактора біофільтра з поліпропіленовими наповнювачами кількість нітрифікуючих мікроорганізмів, порівняно із наповнювачем з керамзиту, була більшою на 16-20 день на один порядок. Цей період є важливий для запуску біофільтра, оскільки охоплює проміжок часу від моменту адаптації бактерій до води та об'єктів УЗВ. Від початкового періоду залежить також досягнення нітрифікуючими мікроорганізмами максимальної швидкості росту і включення біофільтра у виробничий процес.

Таблиця 1 – Динаміка зміни нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача, КУО/см<sup>3</sup>,  $M \pm m$ , n=12

Час дослідження, доба	Вид наповнювача			
	керамзит	RK PLAST	AQ-25	KALDNER K1П
1-5	$7,1 \pm 0,3 \times 10^2$	$8,0 \pm 0,4 \times 10^2$	$7,4 \pm 0,3 \times 10^2$	$7,2 \pm 0,4 \times 10^2$
6-10	$3,5 \pm 0,1 \times 10^3$	$7,8 \pm 0,4 \times 10^3$	$5,5 \pm 0,2 \times 10^3$	$4,3 \pm 0,2 \times 10^3$
11-15	$1,1 \pm 0,1 \times 10^4$	$2,9 \pm 0,1 \times 10^4$	$2,1 \pm 0,1 \times 10^4$	$1,7 \pm 0,1 \times 10^4$
16-20	$7,5 \pm 0,3 \times 10^4$	$3,8 \pm 0,1 \times 10^{5*}$	$2,0 \pm 0,1 \times 10^{5*}$	$1,1 \pm 0,1 \times 10^{5*}$
21-25	$5,2 \pm 0,1 \times 10^6$	$5,9 \pm 0,2 \times 10^{7*}$	$4,1 \pm 0,2 \times 10^{7*}$	$2,7 \pm 0,1 \times 10^{7*}$
26-30	$4,1 \pm 0,2 \times 10^7$	$9,2 \pm 0,5 \times 10^{7*}$	$7,0 \pm 0,3 \times 10^{7*}$	$5,9 \pm 0,3 \times 10^7$

Примітка: \* –  $p \leq 0,05$  – порівняно з керамзитовим наповнювачем.

Так, у біофільтрах з керамзитом, досягнення нітрифікуючими мікроорганізмами максимальної швидкості росту відбувалося нерівномірно і включення його у виробничий процес відбулося найпізніше, порівняно із поліпропіленовими наповнювачами. Протягом 16-20 днів кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді біофільтра з керамзитом зростала в 105 разів, порівняно з 1-5 днем. У наступні п'ять днів розвиток нітрифікуючої мікрофлори був інтенсивніший, їх кількість зростала в 69 разів і становила  $5,2 \pm 0,1 \times 10^6$  КУО/см<sup>3</sup> води. У цей період на нашу думку формується щільна мікробна біоплівка, яка відіграє важливу роль в нітрифікуючому процесі. Адже у наступні п'ять днів досліду за використання керамзитового наповнювача нітрифікуюча мікрофлора збільшилася приблизно у 8 разів. Тому ми вважаємо, що процес формування стабільної біоплівки нітрифікуючих бактерій за використання керамзитового наповнювача завершується на 25-30 добу і надалі вона підтримується в активному стані.

Результати досліджень кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра, в якому наповнювачем є RK PLAST, показали, що заселення наповнювача було таким же як і при заселенні мікроорганізмами керамзиту. Проте інтенсивність цього процесу була швидша. Колонізація нітрифікуючими бактеріями біофільтра практично знаходилася на завершальній стадії уже на 21-25 добу, кількість цих бактерій була на порядок більша, ніж за використання керамзитової загрузки.

Аналогічно біофільтру з наповнювачем RK PLAST змінювалася кількість нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра, в якому наповнювачем є AQ-25. При цьому максимальна кількість нітрифікаторів була у останні два періоди досліду і становила на 25-у добу  $4,1 \pm 0,2 \times 10^7$  і на 30-у добу  $7,0 \pm 0,3 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> води, що свідчить про завершення колонізації наповнювача біофільтра нітрифікуючими мікроорганізмами.

Подібно до двох попередніх пропіленових наповнювачів RK PLASTу і AQ-25, нітрифікатори розмножувалися і у воді біофільтра з наповнювачем KALDNER КІП. Особливістю цього наповнювача є те, що до 21-ї доби досліду наростання кількості нітрифікаторів у воді біофільтра відбувалося повільніше, порівняно із іншими досліджуваними поліпропіленовими наповнювачами, і на 20-у добу їх кількість становила лише  $1,1 \pm 0,1 \times 10^5$  КУО/см<sup>3</sup> води.

Отже, на 26-30 добу кількість нітрифікуючих бактерій у воді реактора за використання пропіленової загрузки RK PLAST була в 2,2 рази ( $p < 0,05$ ) більшою, ніж у воді з керамзитовою загрузкою та в 1,3 і 1,5 рази більшою, ніж із загрузками AQ-25 і KALDNER КІП.

Таким чином у результаті проведених досліджень з визначення кількості нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача за тривалості досліду 30 діб встановлено, що нітрифікатори найшвидше колонізували біофільтр з наповнювачем RK PLAST, дещо повільніше з наповнювачами AQ-25 і KALDNER КІП і найповільніше – керамзитом. При цьому включення біофільтра у виробничий процес відбувалося за використання як наповнювача керамзиту на 26-30-у добу, де кількість нітрифікуючих мікроорганізмів становила  $4,1 \pm 0,2 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> води, а поліпропіленових наповнювачів – на 21-25 добу де кількість нітрифікуючих мікроорганізмів становила за використання наповнювача RK PLAST –  $5,9 \pm 0,2 \times 10^7$ , AQ-25 –  $4,1 \pm 0,2 \times 10^7$  і KALDNER КІП –  $2,7 \pm 0,1 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> води.

Другу групу мікроорганізмів, які беруть участь у процесах нітрогенного циклу, становлять денітрифікуючі бактерії, які відновлюють нітрати до молекулярного азоту. Динаміка кількості денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача представлена у таблиці 2.

Таблиця 2 – Динаміка кількості денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача, КУО/см<sup>3</sup>,  $M \pm m$ ,  $n=12$

Час дослідження, доба	Вид наповнювача			
	керамзит	RK PLAST	AQ -25	KALDNER КІП
1-5	$1,7 \pm 0,1 \times 10^2$	$2,0 \pm 0,1 \times 10^2$	$1,9 \pm 0,1 \times 10^2$	$1,7 \pm 0,1 \times 10^2$
6-10	$8,1 \pm 0,4 \times 10^2$	$9,3 \pm 0,6 \times 10^2$	$8,7 \pm 0,4 \times 10^2$	$8,5 \pm 0,4 \times 10^2$
11-15	$3,7 \pm 0,1 \times 10^3$	$6,8 \pm 0,3 \times 10^3$	$5,2 \pm 0,2 \times 10^3$	$4,7 \pm 0,2 \times 10^3$
16-20	$8,8 \pm 0,5 \times 10^4$	$2,1 \pm 0,1 \times 10^5$	$1,2 \pm 0,1 \times 10^5$	$9,8 \pm 0,6 \times 10^4$
21-25	$4,2 \pm 0,2 \times 10^6$	$9,7 \pm 0,6 \times 10^6$	$8,8 \pm 0,6 \times 10^6$	$6,1 \pm 0,3 \times 10^6$
26-30	$1,7 \pm 0,1 \times 10^7$	$5,6 \pm 0,2 \times 10^7$	$3,9 \pm 0,2 \times 10^7$	$2,1 \pm 0,1 \times 10^7$

Примітка: \* –  $p \leq 0,05$  – порівняно з 1-5 днем дослідження.

У результаті проведених досліджень встановлено, що кількість денітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра була вищою за використання пропіленових наповнювачів, порівняно із керамзитовим наповнювачем, за введення його в технологічний процес і тривалості досліду 30 діб.

Отже, мікроорганізми-денітрифікатори найшвидше іммобілізують біофільтр з наповнювачем RK PLAST, дещо повільніше з наповнювачами AQ-25 і KALDNER K1П і найповільніше з керамзитовим наповнювачем. На 30 добу досліду кількість денітрифікаторів у воді реактора біофільтра становила за використання наповнювача керамзиту –  $1,7 \pm 0,1 \times 10^7$ , RK PLAST –  $5,6 \pm 0,2 \times 10^7$ , AQ-25 –  $3,9 \pm 0,2 \times 10^7$  і KALDNER K1П –  $2,1 \pm 0,1 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> води.

Результатом налагодження процесів нітрогенного циклу реактора біофільтра УЗВ є зниження концентрації нітритів у воді. Результати дослідження динаміки кількості нітритів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача представлено у таблиці 3.

Таблиця 3 – Динаміка кількості нітритів у воді реактора біофільтра з різними видами наповнювача, М±m, n=12, мг/л

Час дослідження, доба	Вид наповнювача			
	керамзит	RK PLAST	AQ -25	KALDNER K1П
1-5	0,5±0,1	0,4±0,1	0,3±0,1	0,4±0,1
6-10	0,8±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1
11-15	1,4±0,2*	1,3±0,1	1,3±0,2*	1,4±0,2*
16-20	1,9±0,2*	1,5±0,2*	1,6±0,2*	1,7±0,2*
21-25	1,9±0,1*	1,3±0,1*	1,4±0,1*	1,5±0,2*
26-30	1,4±0,1*	1,0±0,1*	1,2±0,1*	1,3±0,1*

**Примітка:** \* – p ≤ 0,05 – порівняно з 1-5 днем дослідження.

Аналіз даних, наведених у таблиці 3, показав, що незалежно від виду наповнювача, концентрація нітритів у воді реактора біофільтра зростала до 16-20 доби досліду. На 21-25 добу досліду концентрація нітритів у воді за використання у біофільтрі керамзиту залишалася незмінною, порівняно із попереднім періодом і становила  $1,9 \pm 0,1$  мг/л води, а за використання поліпропіленових наповнювачів знижувалася і становила за використання наповнювача RK PLAST –  $1,3 \pm 0,1$ , AQ-25 –  $1,4 \pm 0,1$  і KALDNER K1П –  $1,5 \pm 0,2$  мг/л води.

Отже, за використання як наповнювача керамзиту, кількість нітритів у воді реактора біофільтра почала знижуватися на 26-30 добу від початку досліду і становила  $1,4 \pm 0,1$  мг/л води, а поліпропіленових наповнювачів на – 21-25 добу де концентрація нітритів становила за використання наповнювача RK PLAST –  $1,3 \pm 0,1$ , AQ-25 –  $1,4 \pm 0,1$  і KALDNER K1П –  $1,5 \pm 0,2$  мг/л води.

**Висновки.** 1. Включення біофільтра у виробничий процес нітрифікації відбувалося за використання як наповнювача керамзиту на 26-30-у добу, де кількість нітрифікуючих мікроорганізмів становила  $4,1 \pm 0,2 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> води, а поліпропіленових наповнювачів на 21-25 добу де кількість нітрифікуючих мікроорганізмів становила за використання наповнювача RK PLAST –  $5,9 \pm 0,2 \times 10^7$ , AQ-25 –  $4,1 \pm 0,2 \times 10^7$  і KALDNER K1П –  $2,7 \pm 0,1 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> води.

2. Мікроорганізми-денітрифікатори найшвидше іммобілізують біофільтр з наповнювачем RK PLAST, дещо повільніше з наповнювачами AQ-25 і KALDNER K1П і найповільніше з керамзитовим наповнювачем. На 30 добу досліду кількість денітрифікаторів у воді реактора біофільтра становила за використання наповнювача керамзиту –  $1,7 \pm 0,1 \times 10^7$ , RK PLAST  $5,6 \pm 0,2 \times 10^7$ , AQ-25 –  $3,9 \pm 0,2 \times 10^7$  і KALDNER K1П –  $2,1 \pm 0,1 \times 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> води.

3. За використання як наповнювача керамзиту, кількість нітритів у воді реактора біофільтра почала знижуватися на 26-30 добу від початку досліду і становила  $1,4 \pm 0,1$  мг/л води, а поліпропіленових наповнювачів – на 21-25 добу де концентрація нітритів становила за використання наповнювача RK PLAST –  $1,3 \pm 0,1$ , AQ-25 –  $1,4 \pm 0,1$  і KALDNER K1П –  $1,5 \pm 0,2$  мг/л води.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Митченко Т.Е. // Вода і водоочисні технології./ Т.Е.Митченко, Н.В/ Макарова // – 2001. – №1. – С. 22-24.
2. Гребенюк Т. В. Методи очистки води на рибоводних підприємствах в умовах вирощування риби в установках замкнутого водопостачання /Т. В. Гребенюк, Г. В. Константиненко // Вісник НТУУ «КПІ». – В. 28. – 2015. – С. 110-114.
3. Гриневич Н.С. Особливості використання біофільтрів з різними типами наповнювача в установках замкнутого водопостачання в аквакультури / Н.С. Гриневич // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2016 – Т 18, № 3 (70). – С. 57-61.